动 物 学 研 究 2001, Oct. 22 (5): 421~424 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

简 报

大熊猫乳汁蛋白组成

费立松[1,4] 陈红卫[1] 郑玉才[2] 王 强[1] 王 杰[2] 李光汉[3] 张安居[3]
([1]成都动物园 成都 610081) ([2]西南民族学院动物科学与技术系 成都 610041)
([3]成都大熊猫繁育研究基地 成都 610081)

摘要：测定了2只大熊猫（*Ailuropoda melanoleuca*）乳汁中蛋白含量、乳糖含量、乳蛋白组成，并与成都麻羊（*Capra hircus*）初乳和中国荷斯坦牛（*Bos taurus*）乳进行了比较。大熊猫乳蛋白含量平均为41.52 g/L，与中国荷斯坦牛乳接近；乳糖平均含量为15.41 g/L，极显著低于牛乳和成都麻羊初乳。乳蛋白SDS-PAGE分析表明，大熊猫乳中酪蛋白（CN）含量明显低于羊乳和牛乳；乳中存在3条蛋白含量高的区带，而在成都麻羊和中国荷斯坦牛乳电泳图谱的相应位置未见明显的区带；乳中上皮粘蛋白MUC1仅存在1条分子量约为196 kDa的区带，未发现多态现象。

关键词：大熊猫；乳；蛋白质；MUC1
中图分类号：Q959.838，Q592.6 **文献标识码**：A **文章编号**：0254-5853(2001)05-0421-04

乳为哺乳动物新生幼仔提供营养和能量来源，如蛋白质、脂肪、矿物质、维生素；同时也提供必要的免疫保护（免疫球蛋白）和传递来源于母体的代谢信息（激素、生长因子）（Larson，1980）。了解乳中上述成分的含量对认识乳的生物学价值有很重要的意义。大熊猫在繁育中常出现弃仔（尤其是双胞胎）或无力抚养等情况，此时人工育幼是提高大熊猫幼仔成活率的重要途径（刘维新等，1994）。大熊猫新生幼仔十分弱小，其生长发育在相当长一段时期内完全依赖母乳，因此，研究分析大熊猫乳的组成对了解幼仔的营养需求有重要理论价值，并对人工育幼有一定指导意义。

有关大熊猫乳的组成已有一些研究报道，但主要局限于乳中的营养成分分析，包括蛋白质、乳脂、糖类、矿物质、维生素含量及氨基酸的组成和含量等（刘选珍等，1998）。对大熊猫初乳免疫球蛋白也有初步报道（王成东等，2001）。本文报道对大熊猫乳中蛋白质组成的初步分析结果，以便认识大熊猫乳的组成特点，为代乳品的研制提供科学依据，并为不同动物乳的比较生物化学研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材 料

大熊猫“庆庆”饲养于成都动物园，大熊猫“成成”饲养于成都大熊猫繁育研究基地，均健康、成年，分别产第7、4胎。用人工挤乳的方法分别挤取常乳乳汁约5 mL；另人工挤取成都麻羊初乳约15 mL和中国荷斯坦牛常乳100 mL作对照；猪乳为太湖猪（二花脸）泌乳中期的乳，约10 mL，采于江苏省。所有样品-40℃保存至分析。

1.2 方 法

取少量全乳用于乳蛋白和乳糖含量的测定及上皮粘蛋白（epithelial mucin，MUC1）多态性的分析。其余乳样4℃ 800 *g* 离心20 min获得脱脂乳，用于SDS电泳。乳蛋白含量采用染料结合分析法（Bradford，1976），以牛血清白蛋白为标准；乳糖含量采用比色法（Teles *et al*.，1978）；乳蛋白组分采用SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）在还原条件下分离（Laemmli，1970），分离胶浓度为12.5%，考马斯亮

收稿日期：2001-03-14；修改稿收到日期：2001-05-08
基金项目：成都大熊猫繁育研究基金会资助项目（199908）
④通讯联系人，通讯地址：四川成都外北动物园，邮编：610081，Tel：（028）3505307

兰R-250染色后，经光密度计扫描确定主要蛋白组分的相对含量；乳MUC1多态性也采用上述SDS-PAGE法，分离胶浓度为6%，浓缩胶浓度为3%，每孔上样7 μL全乳(Patton & Muller, 1991)。电泳后的凝胶按Morrissey(1981)的方法进行银染至显示出清晰的MUC1区带。

1.3 主要试剂和仪器

丙烯酰胺为Sigma产品，SDS为GIBCO BRL产品，用于乳MUC1电泳的高分子量蛋白为Promega产品，其余为国产或生化规格。主要仪器包括Beckman CDS-200型光密度计、德国Hermle公司的Z323K型低温高速离心机、721A型分光光度计

2 结 果

2.1 乳蛋白、乳糖含量

2只大熊猫乳蛋白和乳糖含量个体间差异不大，乳蛋白含量与中国荷斯坦牛乳接近，但明显低于成都麻羊初乳；乳糖含量低于中国荷斯坦牛乳和成都麻羊初乳。结果见表1。

2.2 乳蛋白组成分析

大熊猫脱脂乳蛋白SDS-PAGE图谱与牛乳、山羊乳和猪乳相比有一些不同之处，见图1。大熊猫乳中酪蛋白(CN)含量明显低于羊乳和牛乳，乳中有3条蛋白含量高的区带(其中2条区带位置十分接近，见图1箭头指示部位)，并且在成都麻羊

表1 大熊猫全乳中蛋白质和乳糖的含量

Table 1 Protein and lactose contents in whole milk of the giant panda (g/L)

组分 (component)	大熊猫1 (panda1)	大熊猫2 (panda2)	成都麻羊(初乳) (Chengdu Ma goat)	中国荷斯坦牛 (Chinese Holstein)
乳蛋白 (protein)	43.10	39.94	71.19	39.15
乳糖 (lactose)	15.08	15.74	39.02	46.56

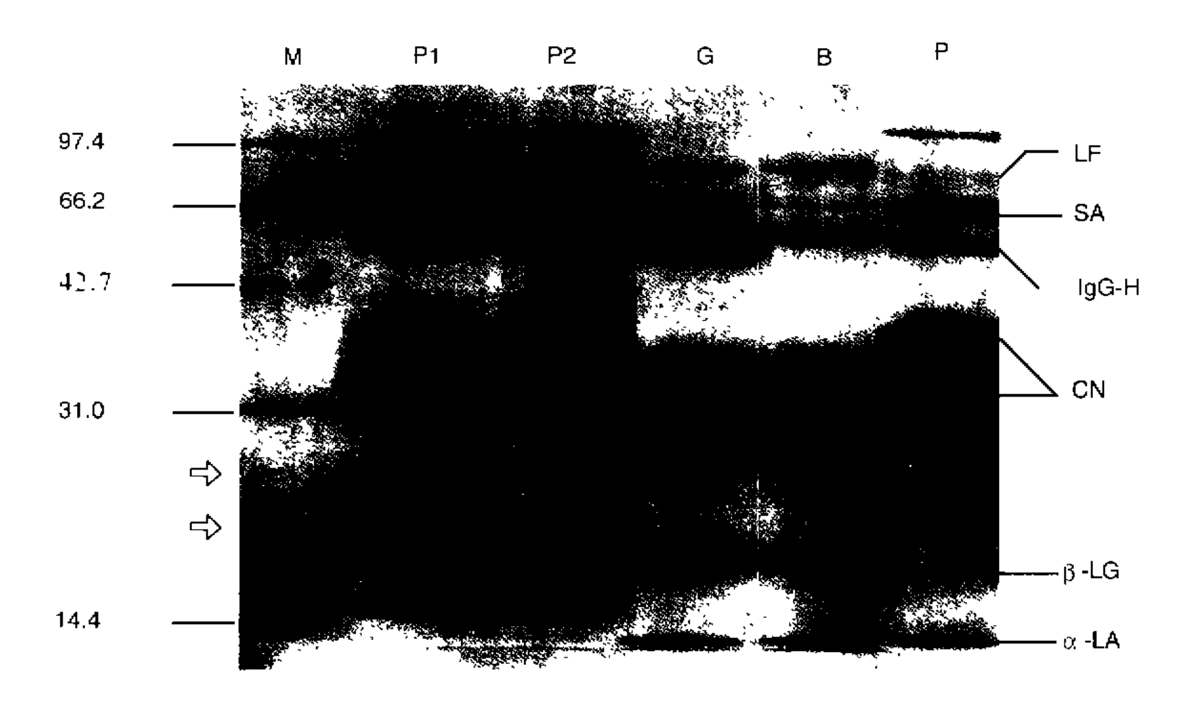


图1 大熊猫脱脂乳蛋白SDS-PAGE图谱

Fig.1 SDS-PAGE of skim milk proteins of the giant panda

M：标准分子量蛋白(kDa)[molecular weight standards (in kDa)]；P1：大熊猫1(panda1)；P2：大熊猫2(panda2)；G：成都麻羊初乳(Chengdu Ma goat colostrum)；B：中国荷斯坦牛常乳(Chinese Holstein milk)；P：太湖猪(二花脸)常乳[Taihu pig (Erhualian pig) milk]；LF：乳铁蛋白(lactoferrin)；SA：血清白蛋白(serum albumin)；IgG-H：免疫球蛋白重链(Immunoglobulin-heavy chain)；CN：酪蛋白(casein)；β-LG：β-乳球蛋白(β-lactoglobulin)；α-LA：α-乳清蛋白(α-lactalbumin)；乳样每孔加40 μg蛋白(40 μg protein/per lane)。

和中国荷斯坦牛乳电泳图谱的相应位置未见明显的区带。另外，在血清白蛋白（SA）和免疫球蛋白重链（IgG-H）之间，也存在 1 条明显的区带，分子量约为 56 kDa。大熊猫乳中主要蛋白组分的相对含量见表 2。

表 2　大熊猫脱脂乳中主要蛋白组分的相对百分含量

Table 2　Relative percentages of the main protein components in skim milk of the giant panda

样品（sample）	15.2 kDa	β-LG	18.6 kDa 19.9 kDa	23.4 kDa	CN	IgG-H	56 kDa	SA	LF	105 kDa 107 kDa
大熊猫 1（panda1）	3.8	1.2	14.9	10.6	47.8	2.3	4.3	4.5	2.9	3.4
大熊猫 2（panda2）	4.0	1.6	17.0	9.4	43.6	3.2	3.4	4.0	1.9	2.4

β-LG、CN、IgG-H、SA、LF：见图 1 注释（cf. the annotate of Fig. 1）；18.6 kDa 和 19.9 kDa 以及 105 kDa 和 107 kDa 的蛋白区带位置分别都很接近，在扫描时无法准确定量，故分别合在一起计算（protein components with molecular weight of 18.6 kDa and 19.9 kDa, either 105 kDa and 107 kDa were scanned and calculated together respectively due to their very near location on the gel, respectively）

2.3　乳 MUC1 电泳分析

全乳 SDS-PAGE 分析显示，2 只大熊猫乳 MUC1 均只出现 1 条区带，分子量约为 196 kDa，未发现多态现象。区带染色特征与牛乳、羊乳相似，即在银染时最先着色。值得注意的是，大熊猫乳 MUC1 含量极显著高于实验所用的中国荷斯坦牛乳、成都麻羊乳和青海牦牛乳样，呈高水平表达。

3　讨　论

本研究显示，大熊猫乳中乳糖含量明显低于中国荷斯坦牛常乳和成都麻羊初乳。过多的乳糖如果不能及时被消化吸收可造成腹泻（Schmidt，1971）；因此，作者建议在用牛乳或羊乳作为大熊猫幼仔的代乳品时，可考虑在其中加入乳糖酶，以增加对高浓度乳糖的消化，保障大熊猫幼仔的健康。另外，实验用成都麻羊初乳中蛋白质含量很高，在用作代乳品时可考虑根据大熊猫乳蛋白含量作适当稀释。由于乳中营养成分的含量与泌乳阶段有很大关系（Schmidt，1971），因此，有必要对大熊猫在整个泌乳期中乳的组成进行系统的分析，为大熊猫的育幼提供更科学的依据。

从乳蛋白 SDS-PAGE 图谱可明显看出，大熊猫乳中酪蛋白含量明显低于羊乳和牛乳。酪蛋白是牛、羊等反刍动物乳中的主要蛋白组分（汪玉松和邹思湘，1995），在人乳和猪等动物乳中含量较低（汪玉松邹思湘，1995；李卫真等，1994）。大熊猫乳中有 3 条蛋白区带含量高（见图 1 中箭头指示的区带），在血清白蛋白和免疫球蛋白重链之间存在的 1 条明显的区带仅发现于大熊猫乳中。这些蛋白有待于进一步的定性分析。

MUC1 是一种高度糖基化的膜结合糖蛋白（Patton & Muller，1991），在乳中的含量仅约为 40 mg/L。目前已经研究的物种中，除小鼠外，人、牛、山羊、马、豚鼠等动物乳 MUC1 在 SDS-PAGE 上均表现出多态性（Patton & Muller，1991；Campana *et al*.，1992），可显示出来自双亲的 2 个共显性等位基因控制的 1 条或 2 条电泳区带，其多态性主要与分子中串联的氨基酸重复序列（20 个左右的氨基酸）的数目有关（Campana *et al*.，1992）。乳 MUC1 的生理功能目前尚未确定，但乳 MUC1 分析对研究物种进化和亲缘关系有一定价值（Patton，1999）。本研究中大熊猫乳 MUC1 仅发现 1 条分子量约为 196 kDa 的区带，没有出现多态性的原因可能与实验样品数量少有关，也可能与大熊猫种群数量少、近亲繁殖造成 MUC1 多态性丧失有关，需要进一步适当扩大样本数量研究确定。实验中观察到的大熊猫乳 MUC1 高水平表达的现象也值得研究。在作者已经研究过的牦牛、黄牛、中国荷斯坦牛、山羊（郑玉才等，2002）和大熊猫等动物中，大熊猫乳 MUC1 表达量最高。

参　考　文　献

Bradford M M，1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Anal. Biochem.*，**72**：248－254.

Campana W M，Josephson R V，Patton S，1992. Presence and genetic polymorphism of an epithelial mucin in milk of the goat（*Capra hircus*）[J]. *Comp. Biochem. Physiol.*，**103B**：261－266.

Laemmli U K, 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4[J]. *Nature*, **277**: 680 – 685.

Larson B L, 1980. Immunoglobulin production and transport by the mammary gland[J]. *J. Dairy Sci.*, **63**: 665 – 670

Li W Z, Zou S X, Tang A F *et al*, 1994. Study on protein components in colostrum of Erhualian pig[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, **3**: 81 – 85. [李卫真, 邹思湘, 汤艾非等, 1994. 二花脸猪初乳的蛋白质组分研究. 南京农业大学学报, **3**: 81 ~ 85.]

Liu W X, Xie Z, Liu Z G *et al*, 1994. A Study of hand-rearing of newborn giant panda[A]. In: Zhang A J, He G X. Minutes of the International Symposium on the Protection of the Giant Panda [C]. Chengdu: Sichuan Science & Technology Press. 164 – 172. [刘维新, 谢 钟, 刘志刚等, 1994. 全人工哺育大熊猫出生兽的研究. 见: 张安居, 何光昕. 成都国际大熊猫保护学术研讨会论文集. 成都: 四川科学技术出版社. 164 ~ 172]

Liu X Z, Yu J Q, Li S C *et al*. 1998. Preliminary study on content of amino acids in the milk of captive giant pandas[A]. In: Zhang A J, He G X. Proceeding of the International Symposium on the Protection of the Giant Panda Chengdu, China 1997[C]. Chengdu: Sichuan Science & Technology Press 186 – 191. [刘选珍, 余建秋, 李绍昌等, 1998 圈养大熊猫乳汁中氨基酸含量的初步分析. 见: 张安居, 何光昕. '97 成都国际大熊猫保护学术研讨会论文集. 成都: 四川科学技术出版社. 186 ~ 191.]

Morrissey J H. 1981. Silver stain for protein in polyacrylamide gels: a modified procedure with enhanced uniform activity [J]. *Anal. Biochem.*, **117**: 307 – 310.

Patton S, 1999. Some practical implications of the milk mucins[J]. *J. Dairy Sci.*, **82**: 1115 – 1117.

Patton S, Muller L D, 1991. Genetic polymorphism of the epithelial mucin, PAS-1, in milk samples from the major dairy breeds[J]. *J. Dairy Sci.*, **175**: 863 – 868.

Schmidt G H, 1971. Factors affecting the yield and composition of milk [A]. In: Schmidt G H. Biology of Lactation[M]. New York: Freeman Company 182 – 195.

Teles F F F, Young C K, Stull J W, 1978. A method for rapid determination of lactose[J]. *J. Dairy Sci.*, **61**: 506 – 508.

Wang C D, Wang Q, Zhong S L *et al*, 2001. The separation and purification of giant panda's immunoglobulins in colostrum and serum and the serumal preparation of rabbit anti-giant panda's immunoglobulins[J]. *Acta Theriologica Sinica*, **21**(1): 72 – 75. [王成东, 王强, 钟顺隆等, 2001. 大熊猫初乳和血清中免疫球蛋白的分离提取及其抗血清的制备. 兽类学报, **21**(1): 72 ~ 75.]

Wang Y S, Zou S X, 1995. Biochemistry of Milk[M]. Changchun: Jilin University Press. 1 – 4. [汪玉松, 邹思湘, 1995. 乳生物化学. 长春: 吉林大学出版社. 1 ~ 4.]

Zheng Y C, Peng X W, Zhong G H *et al*, 2002. Genetic polymorphism of epithelial mucin, Muc1, in milk of yak[J]. *Acta of Animal Science & Veterinary*, (accepted). [郑玉才, 彭先文, 钟光辉等. 2002. 牦牛乳中上皮粘蛋白 MUC1 的遗传多态性研究. 畜牧兽医学报, (已接受).]

Protein Composition of the Giant Panda Milk

FEI Li-Song[①] CHEN Hong-Wei[①] ZHENG Yu-Cai[②] WANG Qiang[①]
WANG Jie[②] LI Guang-Han[③] ZHANG An-Jiu[③]

(① *Chengdu Zoo, Chengdu* 610081, *China*)

(② *Department of Animal Science and Technology, Southwest Nationalities College, Chengdu* 610041, *China*)

(③ *Chengdu Research Base of Giant Panda Breeding, Chengdu* 610081, *China*)

Abstract: Protein and lactose concentrations, protein composition were assayed in milk samples from two giant panda individuals. The results were compared with that of Chengdu Ma goat and Chinese Holstein. The average protein concentration in giant panda milk was 41.52 g/L, similar to Chinese Holstein milk. The average lactose content was 15.41 g/L, significantly lower than goat colostrum and bovine milk. The SDS-PAGE profile of skim milk proteins of the giant pandas was different from that of bovine and goat. Casein content in the giant panda milk was lower than that of goat colostrum and bovine milk. Three protein bands with high content were observed in the giant pandas but not in the Chengdu Ma goat or Chinese Holstein. No polymophism of the giant panda milk MUC1 was found in the two milk samples, and only one band with molecular weight of approximately 196 kDa was observed on the SDS-gel.

Key words: Giant panda; Milk; Protein; MUC1